

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-098756

(43)Date of publication of application : 12.04.1994

---

(51)Int.Cl.

C12M 3/00

---

(21)Application number : 04-275001

(71)Applicant : NISSHO CORP

(22)Date of filing : 18.09.1992

(72)Inventor : FUTAGAWA JUN  
NAITO JIRO  
UNO TAKESHI

---

## (54) BAG FOR CULTURING ADHESIVE CELL

### (57)Abstract:

**PURPOSE:** To provide a bag having a hydrophilic inner surface, capable of efficiently culturing adhesive cells, and performing the culture of a large volume of the cells in a small space by applying a corona discharge treatment to one surface of a film comprising a synthetic resin having a high gas permeability and subsequently processing the film into the bag so that the treated surface of the film is placed on the inner surface of the bag.

**CONSTITUTION:** One surface of a synthetic film such as low density polyethylene film is continuously subjected to a corona discharge treatment using a corona discharge treatment device at a rate of 2m/min in the atmosphere under treating conditions comprising an electrode-treating roll distance of 0.9mm, a collector electric current of 3A, and an output electric power of 250W. The treated film is processed into the bag so that the corona discharge-treated surface is made to become the inner surface of the bag. The bag has the hydrophilic inner surface, can culture a large volume of adhesive cells, can efficiently culture various kinds of the adhesive cells in vivo for long time, and is used for the culture of the adhesive cells.

---

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 15.06.1998

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 23.05.2000

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-98756

(43) 公開日 平成6年(1994)4月12日

(51) Int. Cl. <sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

C 1 2 M 3/00

A

審査請求 未請求 請求項の数 1

(全 3 頁)

(21) 出願番号 特願平4-275001

(22) 出願日 平成4年(1992)9月18日

(71) 出願人 000135036

株式会社ニッショー

大阪府大阪市北区本庄西3丁目9番3号

(72) 発明者 二川 準

大阪市北区本庄西3丁目9番3号

株式会社

ニッショー内

(72) 発明者 内藤 二郎

大阪市北区本庄西3丁目9番3号

株式会社

ニッショー内

(72) 発明者 宇野 毅

大阪市北区本庄西3丁目9番3号

株式会社

ニッショー内

(54) 【発明の名称】 付着性細胞培養用バッグ

(57) 【要約】

【構成】 ガス透過率の高い合成樹脂からなるバッグであって、バッグ内面にコロナ放電処理が施されている付着性細胞培養用バッグ。

【効果】 カルチャーバッグであるので大容量の培養を小スペースで行なうことが可能であり、バッグ内の表面が親水性であるので、付着性細胞を効率よく培養できる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ガス透過率の高い合成樹脂からなるバッグであって、バッグ内面にコロナ放電処理が施されていることを特徴とする付着性細胞培養用バッグ。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、種々の付着性細胞を生体外で長時間培養するための細胞培養用バッグ（以下、カルチャーバッグという。）に関するものである。

【0002】

【従来の技術】細胞培養用容器は細胞種・培養方法・実験目的など用途に応じて様々な種類が開発されている。一般的な培養容器としては、ガラス製の角型フラスコ・T（TD）型フラスコ・デイスポーザルタイプの合成樹脂製のスクリーキャップ式のフラスコ容器・シャーレなどがある。近年デイスポーザルタイプの合成樹脂製の培養容器が頻繁に用いられている。

【0003】しかしこの合成樹脂製の培養容器は一般的には親水性に欠けるため、付着性細胞用の容器としては好ましくない。そこで基材表面を物理化学的手法で改質することにより、基材表面に対する細胞の付着性を向上させることが行われている。

【0004】一般的にこの細胞培養用成形物への物理化学的手法は、特開昭57-146568号公報・特開平1-179685号公報に開示されているように、グロー放電処理・プラズマ処理法やコロナ放電による負電荷密度増加処理法、材料表面に正電荷を導入する方法などが行われ、他に化学的手法として親水性モノマーの表面グラフト重合によって、材料表面に親水性を付与する方法が行われている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】しかし、従来のデイスポーザルタイプのフラスコ培養・シャーレ培養はスペースを大きくとり、大容量の細胞培養に際して不都合であった。

【0006】また、細胞付着面がフラスコ・シャーレの片面、すなわち、上面が利用されないで底面だけしか利用されないで、細胞濃度を上昇させることが不十分であった。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明は、ガス透過率の高い合成樹脂からなるバッグであって、バッグ内面にコロナ放電処理が施されていることを特徴とする付着性細胞用カルチャーバッグを要旨とする。

【0008】本発明において、カルチャーバッグの材質としては、現在一般に使用されているポリオレフィン系樹脂（ポリプロピレン・ポリエチレン・これらの混合物・エチレンプロピレン共重合体等の素材）やエラストマー（スチレンブタジエン熱可塑性樹脂やそれにポリプロピレン・ポリエチレンが混合されたもの）であって、そ

のフィルムからカルチャーバッグが造られる。

【0009】培養にあたり、ガス透過率の大なること、中でも酸素がカルチャーバッグのフィルムをできるだけ透過することが必要であるが、この点で上記具体例は本発明にとって好ましい。

【0010】コロナ放電は高電圧発生器に接続した電極と誘電体を被覆したアース電極の間に間隙を設け高電圧をかけると間隙に高圧コロナを発生する。このコロナ放電を利用した表面処理をコロナ放電処理といい、一般にフィルム状成形品の表面処理に多く用いられている。

【0011】特開昭63-215736号公報に説明されているように、ESCAによる分析手法により、コロナ放電処理前後の化学的变化を見ると、コロナ放電処理後の表面には-CO（カルボニル）基又は-COOH（カルボキシル）基といった官能基が無極性フィルムであるポリオレフィンフィルムの表面に付加する。つまり酸素原子がコロナ放電処理によりフィルム表面に付加され、フィルムの表面が親水性を示すと考えられる。

【0012】本発明者は、カルチャーバッグで、付着性細胞が接するバッグの内面がコロナ放電により親水性を帯びていると、付着性細胞の培養を効率よく行うことを見出したものである。

【0013】本発明において、コロナ放電処理は公知の方法で行う。コロナ処理強度は処理電力・処理時間によって調整される。本発明のコロナ放電処理の一例は実施例において示されている。

【0014】なお、カルチャーバッグ内の細胞が付着する有効面積を少しでも確保できるように該バッグ内にコロナ放電処理が施されているフィルムを含有させ、細胞培養を更に効率よく行うこともできる。

【0015】また、カルチャーバッグはフィルムのくっつき（プロツキング）の見られることがある。この防止のため、カルチャーバッグ内のフィルムの表面及び／又はカルチャーバッグ内面に線状突起を形成させるのも好ましい。これによっても、付着性細胞培養を効率よく行うことが出来る。この線状突起の作り方は型押機（エンボツサー）を用いるとか公知の方法で達成する。

【0016】

【作用】本発明はカルチャーバッグの形態であるので、バッグの上面、下面両方を細胞の付着面として利用することができる。これによってフラスコ培養と比較し、容量当たりの細胞回収量を増加させることができる。

【0017】本発明では、一般に付着性細胞の足場材料としては悪いとされている合成樹脂なる材料表面に短時間のコロナ放電処理で極性基を導入し、材料表面を改質しているので、本発明のカルチャーバッグ内の表面は細胞の付着性が良好となる。

【0018】

【発明の効果】従来のフラスコ培養は、大容量の培養に際して非常に大きなスペースが要求されたが、本発明に

よればバツグ培養であり、大容量の培養を小スペースで行うことが可能である。

【0019】そして本発明のカルチャーバツグ内の表面は親水性であるので、付着性細胞を効率よく培養できる。

【0020】

【実施例】以下、実施例により本発明の効果を具体的に示す。

【0021】（実施例1）コロナ放電処理器に春日電機株式会社製の発信器HFSS-101（周波数：30KHz、出力電圧：最大34KV、出力電力：1KW、電極形状：ナイフ状で長さ30cm）を使用し、低密度ポリエチレンフィルム（密度0.923、厚さ0.1mm、巾25cm）の片面に2m/分の速度でコロナ放電を連続的に施した。

\* 【0022】コロナ放電処理条件は電極と処理ロール間隔を0.9mm、雰囲気は大気中、コレクター電流3A、出力電力250Wとした。コロナ放電処理による印加エネルギーは2.5ジュール/cm<sup>2</sup>とした。

【0023】上記フィルムから、コロナ放電処理を施した面を内面として、容量が1000mlのカルチャーバツグを作製した。

【0024】なお比較例1としてコロナ放電処理を施さないことの他は実施例1と同様の容量が1000mlのカルチャーバツグも作製した。

【0025】培地としては牛胎児血清10%を含むRPMI-1640を用い、ヒト子宮頸部癌由来HeLa細胞を3日間培養した結果を表1に示す。

【0026】

\* 【表1】

	培養開始時、個/ml	3日後、個/ml
実施例1	$0.7 \times 10^5$	$5.7 \times 10^5$
比較例1	$0.7 \times 10^5$	$4.5 \times 10^5$
実施例2	$0.6 \times 10^5$	$4.2 \times 10^5$
比較例2	$0.6 \times 10^5$	$3.3 \times 10^5$
実施例3	$0.6 \times 10^5$	$5.1 \times 10^5$
比較例3	$0.6 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$
実施例4	$0.6 \times 10^5$	$4.1 \times 10^5$
比較例4	$0.6 \times 10^5$	$3.2 \times 10^5$

【0027】（実施例2）実施例1及び比較例1における細胞をヒト成人肝細胞由来Chang Liver細胞に替えた以外は、実施例1と全く同じ培養を行い、実施例2及び比較例2とした。培養した結果を表1に示す。

【0028】（実施例3）実施例1における細胞をマウス結合組織由来L-929細胞に替えた以外は、実施例

1と全く同じ培養を行い、実施例3及び比較例3とした。培養した結果を表1に示す。

【0029】（実施例4）実施例1における細胞をアフリカミドリザル腎由来Vero細胞に替えた以外は、実施例1と全く同じ培養を行い、実施例4及び比較例4とした。培養した結果を表1に示す。